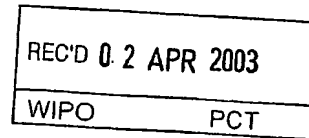


**PRIORITY
DOCUMENT**
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)



**Prioritätsbescheinigung über die Einreichung
einer Patentanmeldung**

Aktenzeichen: 102 00 717.9

Anmeldetag: 10. Januar 2002

Anmelder/Inhaber: Hans-Knöll-Institut für Naturstoff-Forschung e.V.,
Jena/DE;
Friedrich-Schiller-Universität Jena, Jena/DE.

Bezeichnung: Verwendung von Polysaccharid-Derivaten als anti-
infektive Substanzen

IPC: A 61 K, C 08 B

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprüng-
lichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 17. Februar 2003
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

Weihmayer

A 9161
02/00
EDV-L

BEST AVAILABLE COPY

Verwendung von Polysaccharid-Derivaten als antiinfektive Substanzen

Zusammenfassung

Polysaccharide, wie Polyglucane und chemisch oder enzymatisch partiell hydrolysierte Stärken, die mit über Linker gebundenen quaternären Ammoniumgruppen mit einem Substitutionsgrad von 0,4 bis 3,0 substituiert sind, sind als antiinfektive Mittel bzw. für die Behandlung von Infektionserkrankungen, hervorgerufen durch Viren und Bakterien, geeignet.

Ansprüche

1. Verwendung von Polysacchariden, die mit über Linker gebundenen quaternären Ammoniumgruppen bei einem Substitutionsgrad von 0,4 bis 3,0 substituiert sind, zur Behandlung von Infektionserkrankungen.
2. Verwendung von Polysacchariden gemäß Anspruch 1, wobei der Substitutionsgrad 0,6 bis 1,8 beträgt.
3. Verwendung von Polysacchariden gemäß Anspruch 1, wobei es sich bei den Polysacchariden um Polyglucane wie Cellulose, Lichenan, Pullulan, Dextran und Stärke handelt.
4. Verwendung von Polysacchariden gemäß Anspruch 3, wobei es sich bei den Polysacchariden um Stärken wie Kartoffel-, Weizen-, Mais- und Reisstärke, chemisch oder enzymatisch partiell hydrolysierte Stärke oder aus gentechnisch veränderten Pflanzen gewonnene Stärke handelt.
5. Verwendung von Polysacchariden gemäß Anspruch 1, wobei es sich bei den Linkern, über die die quaternären Ammoniumgruppen an die Polysaccharide gebunden sind, um gegebenenfalls durch Hydroxy substituiertes C₂-C₄-Alkylgruppen handelt.
6. Verwendung von Polysacchariden gemäß Anspruch 1 zur Behandlung von viralen und bakteriellen Infektionserkrankungen.

Verwendung von Polysaccharid-Derivaten als antiinfektive Substanzen

Die Erfindung betrifft die Verwendung von Substanzen auf der Basis von Oligo- und Polysacchariden als antiinfektive, wie antibakterielle und antivirale Mittel. Diese antiinfektiven Mittel können beispielsweise in kosmetischen und pharmazeutischen Formulierungen als Konservierungsstoffe, als biologische aktive Verbindung in Arzneimittelzubereitungen, zur biociden Ausrüstung von Oberflächen, von Geweben, und von Verpackungsmaterialien für beispielsweise Lebensmittel oder Produkte, die in der Medizin, Biologie, Pharmazie Verwendung finden, und für die Wundabdeckung zur Anwendung in der kosmetischen und pharmazeutischen Industrie, der Landwirtschaft und der Lebensmittel- und Futtermittelindustrie genutzt werden.

Es ist bekannt, dass global die Infektionen mit bakteriellen Krankheitserregern zunehmen und dabei die antibakterielle Resistenz ein generelles Gesundheitsproblem ist. Ein weltweiter Zuwachs an Tuberkuloseinfektionen mit Mykobakterienstämmen, die im Verlauf der Zeit resistent gegenüber den gewöhnlichen Therapeutika geworden sind (B.R.Bloom, J.L.Murray, Science 257, 1992, 1055), sowie die Therapie von Infektionen mit multiresistenten Staphylokokken (M. Kresken, Bundesgesundheitsblatt 38, 1996, 170), erfordert das Design von neuen Wirksubstanzen. Alternative Wirkstoffe mit neuen Wirkmechanismen, insbesondere zur Entgegenwirkung der Antibiotikaresistenz und zur Bekämpfung bakterieller Infektionen bei Unverträglichkeiten gegenüber vorhandenen Wirkstoffen sind dringend notwendig.

Mit der Entwicklung hochselektiver Nukleosid- und Nukleotidvirustatika wie z. B. Acyclovir, Penciclovir, Ganciclovir, Sorivudine und Cidofovir für Herpesviren wurde zwar ein bedeutender Fortschritt bei der Bekämpfung lebensbedrohlicher Infektionen erreicht, doch die genannten Therapeutika besitzen alle das gleiche Wirkprinzip. Sie hemmen die virale DNA-Polymerase. Ein weiterer Nachteil dieser Verbindungen besteht darin, dass sie auch in den DNA-Stoffwechsel der infizierten Zelle eingreifen und deshalb die Gefahr in sich bergen, mutagene, teratogene und onkogene Wirkungen hervorzurufen (Wutzler, P. Thust, R. Antiv. Res. 49, 2001, 55). Außerdem wurden bei Langzeitanwendung von Nukleosid- und Nukleotidvirustatika sowohl in infizierten Zellkulturen als auch bei

immunsupprimierten Patienten Resistenzentwicklungen gegenüber diesen Medikamenten nachgewiesen (Andrei, G. et al. Antimicrob. Agents Chemother., 1995, 39 1632; Pavic, I. et al. Antimicrob. Agents Chemother., 1997, 39 2686). Deshalb müssen zusätzlich neue hochwirksame antivirale Prophylaktika und Therapeutika mit einem anderen Wirkmechanismus entwickelt werden.

Quartäre Ammoniumverbindungen gehören zur großen Gruppe der biologisch wirksamen Substanzen. Sie sind in der Lage, Mikroorganismen wie Bakterien und Pilze zu vernichten. Niedermolekulare quartäre Ammoniumsalze werden als Desinfektionsmittel oder biocides Beschichtungsmaterial eingesetzt (J. Controlled Release 50, 1998, 145). Ein typisches Problem der niedermolekularen Verbindungen ist eine unzureichende Bioverfügbarkeit beispielsweise hervorgerufen durch verschiedene Transport- und Abbauvorgänge. Polymere quartäre Aminfunktionalisierte Materialien können aus kommerziellen quartären Austauschharzen, durch Graftpolymerisation von Polyurethanen mit Hydroxytelechelen des Polybutadienes oder aus Polysiloxanen mit primären Alkoholfunktionen in der Seitenkette synthetisiert werden. Diese biociden Polymere haben meist hohe Produktionskosten und sind häufig toxisch, da Reste der toxischen Monomere enthalten sind (Trends in Polymer Science 4, 1996, 364). Darüber hinaus kann es zu unerwünschten und gefährlichen Akkumulationen der Polymere im Organismus kommen, da sie nicht biologisch abbaubar sind. Des weiteren werden synthetische Polymere, die kationische Funktionen enthalten, als Dispersionen für den Holzschutz verwendet (US 5,049,383). Nachteil der synthetischen Polymere, die kationische Funktionen enthalten, sind die hohen Herstellungskosten, die Toxizität (Verunreinigung durch Restmonomergehalt) und die Stabilität gegenüber biologischem Abbau.

Polysaccharidderivate mit quartären Ammoniumfunktionen sind bekannt und werden bisher vor allem als Zusatzstoff zur Oberflächenvergütung für die Papier- und Textilindustrie sowie in der Kosmetik als Konsistenzregler eingesetzt, wobei sie nur einen geringen Substitutionsgrad (DS) $< 0,2$ aufweisen. Über die biologischen Wirkungen ist bisher nichts bekannt geworden. Demgegenüber werden antiinfektive Wirkungen, speziell antibakterielle Wirkungen von

Stärkeethern beschrieben, die lange Alkylketten (C₈-C₂₂) enthalten und an die Stärke über Silylethergruppen gebunden sind (JP 05295002). Die geringe chemische Stabilität der Alkylsilylether von Polysacchariden führt zu einer unkontrollierten Freisetzung von funktionellen Gruppen sogar schon durch die
 5 Einwirkung von Luftfeuchtigkeit und damit zur Verringerung oder zum Verlust der biologischen Aktivität (D. Klemm et.al., Comprehensive Cellulose Chemistry, Wiley-VCH, 1998). Darüber hinaus sind niedermolekulare Silylverbindungen toxisch. Ansonsten beziehen sich Veröffentlichungen auf antibakteriell wirksame Cellulosefasern und Chitosanderivate (W. H. Daly, M. M. Guerrini, Polym. Mat. Sci. Eng. **79**, 1998, 220). Chitosan wird als natürliches kationisches
 10 Polysaccharid am häufigsten beschrieben und als fungizides Mittel in der Kosmetik eingesetzt (T. Tashiro, Macromol. Mater. Eng. **286**, 2001, 63, K.C. Gupta, M.N.V.R. Kumar, J.M.S.-Rev. Macromol. Chem. Phys. **C40**, 2000, 273). Nachteile dieser Polysaccharide sind häufig die Verunreinigungen mit anderen
 15 biogenen Substanzen, der hohe Preis aufgrund der aufwendigen Isolierungs- und Reinigungsmethoden und die naturgegebene Struktur, die Ammoniumgruppen sind ausschließlich am Polymerrückgrat lokalisiert. Darüber hinaus ist deren Verteilung nicht steuerbar und der Gehalt ist auf einen Substitutionsgrad von 1 beschränkt. Superabsorber aus kationisch modifizierten
 20 und vernetzten Polysacchariden wie der Cellulose (EP 0 582 624 B1) wurden ebenfalls beschrieben.

Es existieren Angaben in der Literatur, dass die biologische Aktivität aus dem Vorhandensein der quartären Ammoniumfunktionen resultiert, wobei
 andererseits beschrieben wird, dass bei typischen Verbindungen mit
 25 kationischen Tetraalkylstickstoffgruppen wie Polyquaternium 10 nachweislich keine Bioaktivität vorliegt (W.A. Daly, M.M. Guerrini, D. Culberson, J. Macossay, in: Science and Technology of Polymers and Advanced Materials, Plenum Press, 1998, 493). Es lässt sich aus den vorliegenden Literaturergebnissen keineswegs schlussfolgern, ob und welche Strukturen tatsächlich biologisch wirksam sind.

30.

A

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, Polymere mit neuartiger antiinfektiver Wirksamkeit aufzufinden; die Substanzen sollen eine hohe antiinfektive Wirkung in einem breiten Spektrum besitzen, eine effektive Bekämpfung von

Antibiotikaresistenz bei bakteriellen Infektionen gestatten, neue Möglichkeiten zur Therapie von viralen Infektionen bieten, sowie gut verträglich, biologisch abbaubar, nicht toxisch und in einfacher Art herstellbar sind.

5 Die Aufgabe wird erfindungsgemäß durch die Bereitstellung von Polysaccharidderivaten gelöst, bei denen durch Veretherungsreaktionen kationische Funktionen mit einem Substitutionsgrad (DS) im Bereich von 0,4 bis 3,0, insbesondere Alkylammoniumgruppierungen mit einem DS im Bereich von 0,6 bis 1,8 über Spacergruppen in Polysaccharide eingeführt wurden.
10 Polysaccharide sind aufgrund ihrer biologischen Abbaubarkeit und Nichttoxizität besonders geeignet.

Die Erfindung betrifft demgemäß die Verwendung von Polysacchariden, die mit über Linker gebundenen quaternären Ammoniumgruppen mit einem
15 Substitutionsgrad von 0,4 bis 3,0 substituiert sind, als antiinfektive Mittel bzw. zur Behandlung von Infektionserkrankungen.

Die erfindungsgemäß verwendeten Verbindungen weisen eine hohe biologische Aktivität auf und hemmen überraschenderweise das Wachstum pathogener
20 Bakterien, wie z.B. Staphylokokken und Mycobakterien mit minimalen Hemmkonzentrationen im Bereich von 5 - 60 mg/L sowie die Vermehrung von Herpes- und Influenzaviren in einem Bereich von 3-50 mg/L. Die Verbindungen können auf Grund dieser Eigenschaften zur Herstellung von Arzneimitteln zur Vorbeugung und Bekämpfung bakterieller und viraler Infektionen dienen. Sie
25 können sowohl allein als auch in Kombination mit bekannten Therapeutika oder mit physiologisch verträglichen Hilfs- und Trägerstoffen angewandt werden.

Die antiinfektiven Verbindungen können zur Verwendung als Lösung oder Suspension in pharmazeutisch akzeptablen Medien für eine topische oder
30 parenterale Applikation, über intravenöse, subcutane oder intramuskuläre Injektionen, für intranasale Applikation; als Tablette, Kapsel oder Suppositorium zubereitet werden. Die Verbindungen können in Dosierungen von 0,1 - 1000 mg/kg Körpergewicht eingesetzt werden.

Zur Herstellung der erfindungsgemäßen wirksamen Verbindungen werden Polysaccharide, bevorzugt Polyglucane wie Cellulose, Lichenan, Pullulan, Dextran und besonders bevorzugt Stärken wie native Stärken unterschiedlicher Provenienz, beispielsweise Kartoffel-, Weizen-, Mais- und Reisstärke, und chemisch oder enzymatisch partiell hydrolysierte Stärken wie Solamyl, Amylose, Amylopektin und Wachsmaisstärke sowie aus gentechnisch veränderten Pflanzen gewonnene Stärken wie die Hylon-Typen eingesetzt. Der Gehalt an Amylose in den Stärken kann ebenso wie der an Amylopektin jeweils von 0-100%, bevorzugt von 30-70%, betragen. Die Molekulargewichte geeigneter Polysaccharide liegen im Bereich von 10^3 - 10^7 g/mol (vgl. Tab. 1). Die Anhydroglucoseeinheit-Wiederholungseinheiten (AGU) können über $\alpha(1-4)$, $\alpha(1-6)$, $\alpha(1-3)$, $\beta(1-4)$ und $\beta(1-3)$ Bindungen oder auch Kombinationen davon wie beispielsweise $\alpha(1-4)$ und $\alpha(1-6)$, wie in Abb. 1 schematisch gezeigt, oder $\alpha(1-6)$, $\alpha(1-3)$ und $\alpha(1-4)$ miteinander verknüpft sein und unterschiedlich lange und verknüpfte Seitenketten enthalten. Darüber hinaus können auch weitere funktionelle Gruppen wie Phosphatesterfunktionen beispielsweise bei der natürlichen Kartoffelstärke enthalten sein.

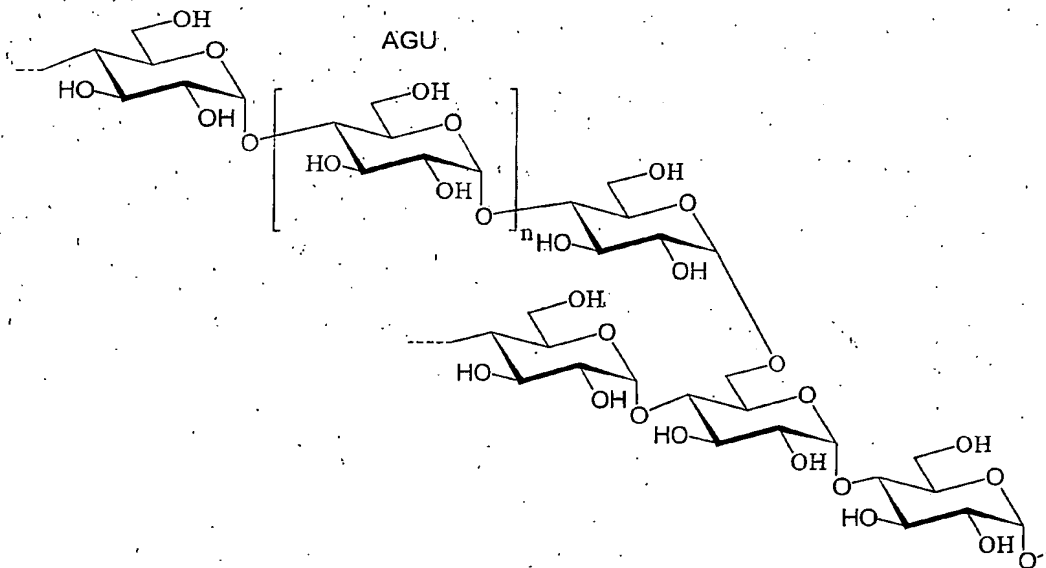


Abb. 1 Strukturbeispiel der einsetzbaren Polysaccharide

Tab. 1:

Stärkematerial	Amylosegehalt (%)	Molekulargewicht (GPC ¹) (g · mol ⁻¹)
Hylon VII (H)	70	9 · 10 ⁶
Kartoffelstärke (P, Emsland)	28	40 · 10 ⁶
Maisstärke (M)	28	76 · 10 ⁶
Weizenstärke (W)	26	65 · 10 ⁶
Wachsmaisstärke (WM)	1	51 · 10 ⁶
Solamyl (S)	28	9700

¹bestimmt in DMSO

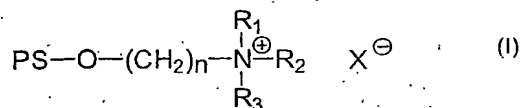
Das Ausmaß der Umsetzung an den Hydroxylgruppen wird durch den durchschnittlichen Substitutionsgrad (DS) beschrieben. Dieser Durchschnittswert gibt ohne jede Differenzierung die Anzahl der funktionalisierten Hydroxylgruppen an und liegt demnach bei den genannten Polysacchariden definitionsgemäß im Bereich von 0 bis 3. Der DS an kationischen Gruppen der antiinfektiv wirksamen Polysaccharidderivate der Erfindung liegt zwischen 0,4 und 3,0, bevorzugt zwischen 0,6 und 1,8. Werden bei Derivatisierungen funktionelle Gruppen eingeführt, die selbst reaktive Gruppierungen enthalten, z.B. Hydroxylgruppen als Ergebnis der Veretherung von Polysacchariden mit Epoxiden, können diese unter Ausbildung von längeren Seitenketten ebenfalls reagieren.

Die erfindungsgemäß verwendbaren Polysaccharidderivate sind bekannt oder können in an sich bekannter Weise gewonnen werden, insbesondere durch Veretherung von Polysacchariden mit reaktiven Verbindungen, wodurch entweder direkt quartäre Ammoniumverbindungen der allgemeinen Formel (I) (PS: Polysaccharid-Rest, nur ein Substituent gezeigt) gebildet werden oder wobei die Quaternisierung im Anschluss an die Veretherungsreaktion erfolgt. In Formel (I) bedeutet R₁, R₂ und R₃ unabhängig voneinander vorzugsweise Alkyl mit 1-4 C Atomen oder Benzyl oder substituiertes Benzyl (Substituenten sind z.B. 1 bis 3 Alkyl, Halogen, Alkoxy, Carbamoyl, Alkoxycarbonyl, Cyano, Dialkylamino), R₁ auch Wasserstoff, X ein Anion (z.B. Halogenid, Hydroxid,

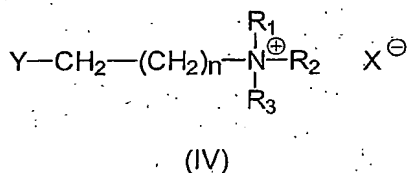
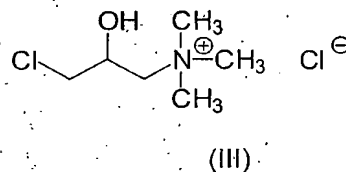
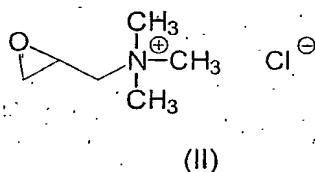
164

7

Sulfat, Hydrogensulfat und ein anderes Anion von Mineral- und Carbonsäuren),
n 2-4 sein kann.



Bevorzugt verwendete quartäre Kationisierungsreagenzien sind das 2,3-Epoxypropyltrimethylammoniumchlorid (QUAB®151, Degussa AG, Formel II) oder das 3-Chloro-2-hydroxypropyltrimethylammoniumchlorid (QUAB®188, Degussa AG, Formel III). Es lassen sich auch Reagenzien der allgemeinen Formel IV mit Y = Cl, Br und n = 1-3 zur Veretherung der Polysaccharide heranziehen.



Demgemäß handelt es sich bei dem Linker, über den die quaternären Ammoniumgruppen an die Polysaccharide gebunden sind, um gegebenenfalls durch Hydroxy substituiertes C₂-C₄-Alkyl.

Die Veretherung zur Herstellung der biologisch aktiven Polysaccharidderivate kann in unterschiedlicher Weise durchgeführt werden und erfolgt in an sich bekannter Weise, wobei hohe Gehalte an den kationischen Gruppen realisiert werden. Sowohl Suspensionen der Polymere in einem Alkohol und Natronlauge und Wasser (heterogenes Verfahren), wobei Alkohole wie Methanol, Isopropanol und bevorzugt Ethanol, oder wässrigen Alkalilaugen, bevorzugt Natronlauge/Wasser mit einem Übergang vom heterogenen zum homogenen System als auch homogene Lösungen der Polymere in dipolar-aprotischen

25

Lösemitteln wie Dimethylsulfoxid oder Dimethylacetamid in Gegenwart von Lithiumchlorid oder weiteren Lösemitteln als Reaktionsmedien geeignet sind. Die Reaktionszeit für die Umsetzung mit dem Kationisierungsreagenz liegt zwischen 1 und 48 h, bevorzugt bei 3 bis 24 h, und die Temperatur zwischen 30 und 130°C, bevorzugt bei 40 bis 80°C. Durch die eingesetzten Moläquivalente des Veretherungsmittels kann zusätzlich der Substitutionsgrad der Produkte eingestellt und in weiten Grenzen variiert werden. Darüber hinaus sind auch Mehrstufenreaktionen für die Gewinnung der Polysaccharidderivate geeignet, wobei ein bereits kationisiertes oder aminofunktionalisiertes Produkt erneut unter den oben genannten Bedingungen umgesetzt wird. Die Aufarbeitung der Reaktionsprodukte erfolgt mit üblichen Verfahren der Polymerchemie, wobei die niedermolekularen Nebenprodukte und Reagenzreste durch Dialyse oder Waschprozesse oder Umfällen aus Wasser in organische Lösemittel abgetrennt werden.

Die Substitutionsgrade werden mittels Elementaranalyse ermittelten Stickstoffwerten nach folgender Bestimmungsformel berechnet:

$$DS_N = \frac{162,15 \cdot \%N}{1401 - 151,64 \cdot \%N}$$

Darüber hinaus eignen sich die in den Verbindungen enthaltenen Gegenionen wie Chlorid und die NMR-Spektren zur Bestimmung der DS-Werte.

Die folgenden Ausführungsbeispiele sollen die Erfindung näher erläutern, jedoch in keiner Weise einschränken.

B

Ausführungsbeispiele:

1. Herstellung der Verbindungen durch heterogene Reaktionsführung in Ethanol/Natronlauge/Wasser

20 g Polysaccharid (Art des Polysaccharides, siehe folgende Tabelle 2) werden in 80 ml Ethanol suspendiert. Zu dieser Suspension wird eine Lösung von 10,85 g NaOH in 28 ml Wasser und 80 ml Ethanol sowie eine Lösung von 0,246 mol QUAB®188 (69% wässrige Lösung) zugetropft. Das Reaktionsgemisch wird für 6

9

h bei 60°C gerührt. Das Produkt wird mit 0,1 n HCl neutralisiert, dialysiert und gefriergetrocknet.

Die Ausbeute beträgt 95 % (bezogen auf den erreichten DS).

Elementaranalyse: N % 3,51

5 Durchschnittlicher Substitutionsgrad (DS_N) = 0,66

Tab. 2: Heterogene Kationisierung

Reagenz				Substitutionsgrad
Polysaccharid	Typ	Molverhältnis AGU : Reagenz	Produkt	
Hylon	QUAB [®] 188	1 : 3	H 1 (466)	0,50
Hylon	QUAB [®] 188	1 : 2	H 2 (KS005)	0,66
Amioca	QUAB [®] 188	1 : 3	WM 1 (505)	0,14
Kartoffelstärke	QUAB [®] 188	1 : 3	P 1 ¹ (491)	0,34
Kartoffelstärke	QUAB [®] 188	1 : 3	P 2 ¹ (469)	0,58
Weizenstärke	QUAB [®] 188	1 : 3,25	W 1 (527)	0,99
Weizenstärke	QUAB [®] 188	1 : 2	W 3 (571)	0,61
Weizenstärke	²	1 : 5	W 4	0,72
Weizenstärke	²	1 : 10	W 5	0,81

¹ unterschiedliche NaOH-Konzentration

10 ² Reagenz: Cl-CH₂-CH₂-N(C₂H₅)₂Cl

2. Umsetzung von Polysacchariden in wässriger Natronlauge

15 20 g Polysaccharid (Art des Polysaccharides, siehe folgende Tabelle 3) werden in einer NatronlaugeLösung (0,5 g NaOH in 100 ml Wasser) suspendiert. Das Gemisch wird für eine Stunde bei 60°C gerührt. Bei dieser Temperatur werden 0,123 mol QUAB[®]151 bzw. im Fall der abgebauten Stärke Solamyl wird QUAB[®]188 zugetropft. Das Reaktionsgemisch wird für 6 h bei 60°C gerührt. Nach

Abkühlung auf Raumtemperatur wird das Gemisch mit 0,1 n HCl neutralisiert; anschließend dialysiert und gefriergetrocknet.

Die Ausbeute beträgt 98% (bezogen auf den erreichten DS).

Elementaranalyse: N % 3,34

5 Durchschnittlicher Substitutionsgrad (DS_N) = 0,60

Tab. 3: Hetero-/homogene Kationisierung

Reagenz				Substitutionsgrad
Polysaccharid	Typ	Molverhältnis AGU : Reagenz	Produkt	
Hylon	QUAB [®] 151	1 : 1	H 3 (477)	0,40
Hylon	QUAB [®] 151	1 : 2	H 4 (KS006)	0,92
Amioca	QUAB [®] 151	1 : 0,5	WM 2 (503)	0,38
Amioca	QUAB [®] 151	1 : 1	WM 3 (501)	0,60
Amioca	QUAB [®] 151	1 : 2	WM 4 (502)	0,92
Maisstärke	QUAB [®] 151	1 : 0,5	M 1 (517)	0,35
Maisstärke	QUAB [®] 151	1 : 1	M 2 ¹ (516)	0,55
Maisstärke	QUAB [®] 151	1 : 1	M 3 ¹ (519)	0,72
Maisstärke	QUAB [®] 151	1 : 2	M 4 (515)	1,03
Kartoffel	QUAB [®] 151	1 : 3	P 3 (KS 016)	0,69
Kartoffel	QUAB [®] 151	1 : 2	P 4 (KS 013)	1,05
Weizenstärke	QUAB [®] 151	1 : 0,5	W 4 (520)	0,39
Solamyl	QUAB [®] 188	1 : 2	S 1 ¹ (554)	0,68
Solamyl	QUAB [®] 188	1 : 3	S 2 (555)	0,76
Solamyl	QUAB [®] 188	1 : 2	S 3 ¹ (568)	0,80

¹ unterschiedliche NaOH-Konzentration

10

3. Homogene Reaktionsführung in Dimethylsulfoxid (DMSO)

15 g Polysaccharid (Art des Polysaccharides, siehe folgende Tabelle 4) werden in Dimethylsulfoxid (DMSO) bei Raumtemperatur suspendiert und auf 80°C

15 erwärmt, wobei sich das Polysaccharid auflöst. Die Lösung wird auf

Raumtemperatur abgekühlt und 0,5 g ¹¹ NaOH gelöst in 20 ml Wasser zugesetzt. Anschließend werden 0,0925 mol QUAB®151 unter Rühren zugetropft. Das Reaktionsgemisch wird für 24 h bei 60°C gerührt. Nach Abkühlung auf Raumtemperatur wird das Gemisch mit 0,1 n HCl neutralisiert, anschließend dialysiert und gefriergetrocknet.

Die Ausbeute beträgt 99% (bezogen auf den erreichten DS).

Elementaranalyse: N % 3,22

Durchschnittlicher Substitutionsgrad (DS_N) = 0,57

10 Tab. 4: Homogene Kationisierung

Reagenz		Substitutionsgrad		
Polysaccharid	Typ	Molverhältnis	Produkt	
AGU : Reagenz				
Hylon	QUAB®151	1 : 3	H 5 (436)	0,55
Kartoffelstärke	QUAB®151	1 : 1	P 5 (KS 9)	0,42
Amioca	QUAB®151	1 : 1	WM 5 (504)	0,57
Weizenstärke	QUAB®151	1 : 1	W 5 (531)	0,41
Maisstärke	QUAB®151	1 : 1	M 5 (532)	0,40
Solamyl	QUAB®151	1 : 1	S 4 (588)	0,60

4. Kationisierung in mehreren Stufen

15

5 g kationisiertes Polysaccharid (Art des Polysaccharides, siehe folgende Tabelle 5) werden in einer NatronlaugeLösung (0,5 g NaOH in 100 ml Wasser) suspendiert. Das Gemisch wird für eine Stunde bei 60°C gerührt. Bei dieser

Temperatur werden 0,2 mol QUAB[®]151 zugetropft. Das Reaktionsgemisch wird für 6 h bei 60°C gerührt. Nach Abkühlung auf Raumtemperatur wird das Gemisch mit 0,1 n HCl neutralisiert; anschließend dialysiert und gefriergetrocknet.

5 Die Ausbeute beträgt 95% (bezogen auf den erreichten DS).

Elementaranalyse: N % 5,11

Durchschnittlicher Substitutionsgrad (DS_N) = 1,32

Tab. 5: Kationisierung in mehreren Stufen

Kationisierte Stärke		Reagenz		Substit. Grad	
Polysaccharid	Ausgangs-DS	Typ	Molverh. AGU:Reag.	Produkt	DS _N
Hylon	0,40	QUAB [®] 151	1 : 2	H 6 (479)	0,90
Hylon	0,80	QUAB [®] 151	1 : 1,5	H 7 (498)	1,10
Kartoffel	0,77	QUAB [®] 151	1 : 2	P 6 (506)	1,18
Kartoffel	0,42	QUAB [®] 151	1 : 10	P 7 (597)	1,32
Amioca	0,60	QUAB [®] 151	1 : 10	WM 6 (598)	1,25
Weizen	0,41	QUAB [®] 151	1 : 10	W 6 (603)	1,16
Weizen	0,88	QUAB [®] 151	1 : 10	W 7 (602)	1,41
Mais	0,55	QUAB [®] 151	1 : 10	M 6 (600)	1,13
Kartoffel	1,32	QUAB [®] 151	1 : 15	P 8	1,80
Mais	1,13	QUAB [®] 151	1 : 10	M 7	1,65
Solamyl	0,80	QUAB [®] 151	1 : 2	S 5 (610)	0,91

5. Bestimmung der antibakteriellen/antimikrobiellen Aktivität der Verbindungen gegen grampositive und gramnegative Bakterien und gegen Hefen.

15

Die antibakterielle Aktivität der Verbindungen gegen Staphylococcus aureus SG 511, S. aureus 134/93 (multiresistent) und Mycobacterium vaccae IMET 10670 wurde mittels Bestimmung der minimalen Hemmkonzentrationen (MHK) in einem

20

13

Mikro-Bouillon-Verdünnungstest in Müller-Hinton Bouillon (DIFCO)
entsprechend der NCCLS-Richtlinien [National Committee for Clinical Laboratory
Standards: Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that
grow aerobically; 4th Ed.; Villanova, Ed.; Approved standard Document M7-A4:
5 NCCLS, (1997)] geprüft. Die Ergebnisse sind in Tabelle 6 dargestellt.

Tab. 6: Antibakterielle Aktivität

Probe	Substitutions- grad DS _N	MHK [mg/L]		
		Staphylococcus		Mycobacterium
		aureus		vaccae
		SG 511	134/93	IMET10670
H 4 KS006	0,92	15,6	15,6	7,8
H 7 498	1,10	15,6	15,6	7,8
WM 4 502	0,92	31,25	62,5	15,6
M 3 519	0,72	15,6	62,5	7,8
M 4 515	1,03	31,25	62,5	15,6
P 3 016	0,69	31,25	62,5	7,8
P 4 013	1,05	15,6	125	3,9
W 2 567	0,57	62,5	62,5	15,6
W 3 571	0,61	31,25	31,25	7,8
W 1527	0,99	31,25	31,25	15,6
S 1 554	0,68	31,25	62,6	15,6
S 2 555	0,76	15,6	31,25	7,8
S 3 568	0,80	15,6	15,6	7,8

10

6. Bestimmung der antiviralen Wirkung gegenüber Herpes simplex Virus Typ 1

Vor den antiviralen Untersuchungen wurde die 50 %ig zytotoxische
Konzentration (CC₅₀) in Green monkey kidney (GMK) Zellen bestimmt, um
15 unspezifische Substanzwirkungen ausschließen zu können. Dazu werden
geschlossene GMK-Zellrasen in Mikrotiterplatten mit den entsprechenden

Substanzverdünnungs-reihen (Faktor ¹⁴ 2) beimpft (Schmidtke et al.; J. Virol. Meth. **95**, 2001, 133). Nach einer 72-stündigen Inkubation erfolgt die Färbung der Zellen mit Kristallviolett/Methanol. Nach dem Herauslösen des Farbstoffes wird die optische Dichte der einzelnen Vertiefungen in einem Plattenphotometer der Firma Dynatech (550/630 nm) gemessen und mit dem Mittelwert von 6 unbehandelten Zellkontrollen verglichen, der als 100 % angenommen wird. Die CC₅₀ stellt die Substanzkonzentration im Schnittpunkt der Extinktionskurve der Verdünnungsreihe mit der 50 % Linie des Kontrollmittelwertes dar. Die antivirale Wirkung der Verbindungen gegenüber HSV-1 wurde im zytopathischen Effekt-Hemmtest (zpE-Hemmtest) in GMK-Zellen untersucht und die 50 %ige Hemmdosis (IC₅₀) ermittelt (Schmidtke et al.; J. Virol. Meth. **95**, 2001, 133). Der Selektionsindex wurde als Quotient aus CC₅₀ und IC₅₀ berechnet (Tabelle 7). Die Ausgangsverbindungen (QUAB-Reagenzien bzw. nichtmodifizierte Stärken) zeigten keine antivirale Wirkung (Ergebnisse nicht dargestellt).

Tab. 7: Antivirale Aktivität

Probe	Substitutions- grad DS _N	CC ₅₀ (µg/ml) in GMK-Zellen	IC ₅₀ (µg/ml) gegenüber HSV-1	Selektionsindex (CC ₅₀ /IC ₅₀)
H 3 477	0,40	>200	8,54	> 23,42
H 1 466	0,50	>200	5,11	> 39,14
H 2 005	0,66	> 200	7,07	> 28,29
WM 2 503	0,38	> 200	7,05	> 28,37
M 1 517	0,35	> 200	7,84	> 25,51
P 1 491	0,34	> 200	10,15	> 19,70
W 4 520	0,39	> 200	10,55	> 18,96
S 1 554	0,68	141,54	3,59	39,43

7. Bestimmung der Wirkungsweise im modifizierten PRT

Die Untersuchungen zum Wirkmechanismus der Substanz wurden mit dem Acyclovir- und Phosphonoameisensäure-sensitivem HSV1 Stamm Kupka in einem modifizierten PRT beispielhaft mit der Verbindung M 1 durchgeführt (Schmidtke et al.; J. Virol. Meth. 95, 2001, 133). Hierbei erfolgte die Substanzzugabe in verschiedenen Konzentrationen:

1. nur zu zellfreiem Virus (10^6 pfu/ml), welches dann mit der Verbindung für 6h bei 37°C inkubiert und nach Ausverdünnen der Substanz in den PRT eingebracht wurde: keine Plaquereduktion im Dosisbereich bis 625-25 µg/ml

Erzeugen wurde keine Plaquereduktion im Dosisbereich bis 0,25-25 µg/ml

(Ergebnisse nicht dargestellt),

2. nur im Agar: ☐e Plaquereduktion im Dosisbereich ☐25 µg/ml

(Ergebnisse nicht dargestellt),

3. nur während der einstündigen Adsorption für 2 h bei 4°C (3,12-12,5 µg/ml)

15 und

4. 1, 2 und 4 h vor Viruszugabe (3,12-12,5 µg/ml).

Die Ergebnisse der Untersuchungen zum Wirkmechanismus zeigen, dass die erfindungsgemäßen Verbindungen nicht viruzid wirken, denn eine Inaktivierung von zellfreiem Virus konnte nicht festgestellt werden. Voraussetzung für die

20 Hemmung der Herpesvirusreplikation ist vielmehr die Anwesenheit der Substanz vor bzw. während der Virusadsorption an die Testzellen.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int. Appl. No.

PLI/DE 03/00095

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 IPC 7 A61K31/715 A61K31/716 A61K31/717 A61K31/718 A61K31/719
 A61K31/721 A61P31/04 A61P31/12

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, EMBASE, BIOSIS, FSTA, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DATABASE WPI Section Ch, Week 199216 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class A14, AN 1992-126185 XP002242820 & JP 04 057969 A (UNITIKA LTD), 25 February 1992 (1992-02-25) abstract	1-6
X	WO 00 26447 A (SCHNYDER MARCEL ;CIBA SC HOLDING AG (CH); ZHANG CLEMENT GUI MIN (C) 11 May 2000 (2000-05-11) abstract page 7	1-6
X	US 6 306 835 B1 (MANUSZAK-GUERRINI MELISSA A ET AL) 23 October 2001 (2001-10-23) the whole document	1,2,5,6
	--- -/--	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *G* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

28 May 2003

Date of mailing of the international search report

06/06/2003

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Skjöldebrand, C

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/DE 03/00095

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 98 29099 A (BIOVECTOR THERAPEUTICS SA) 9 July 1998 (1998-07-09) page 9, paragraph 4 -page 10, paragraph 1 ---	1-6
A	US 4 708 951 A (SHIBATA TOHRU ET AL) 24 November 1987 (1987-11-24) claims ---	1-6
A	EP 0 948 960 A (NAT STARCH CHEM INVEST) 13 October 1999 (1999-10-13) claim 18 ---	1-6
A	US 5 595 980 A (BRODE GEORGE L ET AL) 21 January 1997 (1997-01-21) examples -----	1-6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/DE03/00095

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Although Claims 1-6 relate to a method for treatment of the human or animal body, the search was carried out on the basis of the alleged effects of the compound or composition.
2. ☒ Claims Nos.: 1, 2, 5, 6 (in part)
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

see supplemental sheet FURTHER INFORMATION PCT/ISA/210
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/DE03/00095**FURTHER INFORMATION****PCT/ISA/210****Continuation of I.2****Claims: 1, 2, 5, 6 (in part)**

The current Claims 1 and 2 relate to a disproportionately large number of possible compounds, of which only a small portion are supported by the description (PCT Article 6) and/or can be regarded as having been disclosed in the application (PCT Article 5). In the present case the claims lack the proper support and the application lacks the requisite disclosure to such an extent that it appears impossible to carry out a meaningful search covering the entire range of protection sought. Therefore, the search was directed to the parts of the claims that appear to be supported and disclosed in the above sense, that is the parts concerning the polysaccharides of Claims 3 and 4.

The applicant is advised that claims or parts of claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established normally cannot be the subject of an international preliminary examination (PCT Rule 66.1(e)). In its capacity as International Preliminary Examining Authority the EPO generally will not carry out a preliminary examination for subjects that have not been searched. This also applies to cases where the claims were amended after receipt of the international search report (PCT Article 19) or where the applicant submits new claims in the course of the procedure under PCT Chapter II.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/DE 03/00095

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
JP 4057969	A	25-02-1992	NONE	
WO 0026447	A	11-05-2000	AU 6473499 A CN 1325462 T WO 0026447 A1 EP 1141453 A1 TR 200101052 T2	22-05-2000 05-12-2001 11-05-2000 10-10-2001 21-08-2001
US 6306835	B1	23-10-2001	NONE	
WO 9829099	A	09-07-1998	US 6096291 A AU 739512 B2 AU 5675698 A BR 9713792 A EP 0948322 A2 HU 0001838 A2 WO 9829099 A2 JP 2001507358 T US 6017513 A	01-08-2000 11-10-2001 31-07-1998 08-02-2000 13-10-1999 28-10-2000 09-07-1998 05-06-2001 25-01-2000
US 4708951	A	24-11-1987	JP 1697682 C JP 3065187 B JP 60203265 A	28-09-1992 09-10-1991 14-10-1985
EP 0948960	A	13-10-1999	US 6413505 B1 AU 750238 B2 AU 2367699 A BR 9917173 A CN 1246328 A EP 0948960 A2 JP 11322552 A NO 991661 A NZ 335119 A SG 73633 A1 ZA 9902594 A	02-07-2002 11-07-2002 21-10-1999 11-12-2001 08-03-2000 13-10-1999 24-11-1999 11-10-1999 29-09-2000 20-06-2000 09-10-2000
US 5595980	A	21-01-1997	AT 193438 T AU 8011594 A CA 2173101 A1 DE 69424793 D1 DE 69424793 T2 EP 0721326 A1 JP 9503763 T WO 9508981 A1 ZA 9407572 A	15-06-2000 18-04-1995 06-04-1995 06-07-2000 21-09-2000 17-07-1996 15-04-1997 06-04-1995 28-09-1995

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 A61K31/715 A61K31/716 A61K31/717 A61K31/718 A61K31/719
A61K31/721 A61P31/04 A61P31/12

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RESEARCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 A61K A61P

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, EMBASE, BIOSIS, FSTA, CHEM ABS Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	DATABASE WPI Section Ch, Week 199216 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class A14, AN 1992-126185 XP002242820 & JP 04 057969 A (UNITIKA LTD), 25. Februar 1992 (1992-02-25) Zusammenfassung ---	1-6
X	WO 00 26447 A (SCHNYDER MARCEL ;CIBA SC HOLDING AG (CH); ZHANG CLEMENT GUI MIN (C) 11. Mai 2000 (2000-05-11) Zusammenfassung Seite 7 ---	1-6
X	US 6 306 835 B1 (MANUSZAK-GUERRINI MELISSA A ET AL) 23. Oktober 2001 (2001-10-23) das ganze Dokument ---	1,2,5,6
	-/--	

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

E älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

G Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

28. Mai 2003

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

06/06/2003

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Skjöldebrand, C

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	WO 98 29099 A (BIOVECTOR THERAPEUTICS SA) 9. Juli 1998 (1998-07-09) Seite 9, Absatz 4 -Seite 10, Absatz 1 ----	1-6
A	US 4 708 951 A (SHIBATA TOHRU ET AL) 24. November 1987 (1987-11-24) Ansprüche ----	1-6
A	EP 0 948 960 A (NAT STARCH CHEM INVEST) 13. Oktober 1999 (1999-10-13) Anspruch 18 ----	1-6
A	US 5 595 980 A (BRODE GEORGE L ET AL) 21. Januar 1997 (1997-01-21) Beispiele -----	1-6

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

ationales Aktenzeichen
PCT/DE 03/00095

Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. ☒ Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich
Obwohl die Ansprüche 1-6 sich auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen/tierischen Körpers beziehen, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindung/Zusammensetzung.
2. ☒ Ansprüche Nr. 1, 2, 5, 6 (zum Teil)
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
siehe Zusatzblatt WEITERE ANGABEN PCT/ISA/210
3. ☐ Ansprüche Nr.
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. ☐ Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. ☐ Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. ☐ Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4. ☐ Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- ☐ Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
☐ Die Zahlung zusätzlicher Recherchegebühren erfolgte ohne Widerspruch.

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Fortsetzung von Feld I.2

Ansprüche Nr.: 1, 2, 5, 6 (zum Teil)

Die geltenden Patentansprüche 1, 2 beziehen sich auf eine unverhältnismäßig große Zahl möglicher Verbindungen, von denen sich nur ein kleiner Anteil im Sinne von Art. 6 PCT auf die Beschreibung stützen und/oder als im Sinne von Art. 5 PCT in der Patentanmeldung offenbart gelten kann. Im vorliegenden Fall fehlt den Patentansprüchen die entsprechende Stütze und fehlt der Patentanmeldung die nötige Offenbarung in einem solchen Maße, daß eine sinnvolle Recherche über den gesamten erstrebten Schutzbereich unmöglich erscheint. Daher wurde die Recherche auf die Teile der Patentansprüche gerichtet, welche im o.a. Sinne als gestützt und offenbart erscheinen, nämlich die Teile betreffend, die Polysaccharide der Ansprüche 3, 4.

Der Anmelder wird darauf hingewiesen, daß Patentansprüche, oder Teile von Patentansprüchen, auf Erfindungen, für die kein internationaler Recherchenbericht erstellt wurde, normalerweise nicht Gegenstand einer internationalen vorläufigen Prüfung sein können (Regel 66.1(e) PCT). In seiner Eigenschaft als mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde wird das EPA also in der Regel keine vorläufige Prüfung für Gegenstände durchführen, zu denen keine Recherche vorliegt. Dies gilt auch für den Fall, daß die Patentansprüche nach Erhalt des internationalen Recherchenberichtes geändert wurden (Art. 19 PCT), oder für den Fall, daß der Anmelder im Zuge des Verfahrens gemäß Kapitel II PCT neue Patentansprüche vorlegt.

INTERNATIONALER RESEARCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichung

die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Akten

PC1/DE 03/00095

Im Recherchenbericht angeführtes Patentedokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
JP 4057969 A	25-02-1992	KEINE	
WO 0026447 A	11-05-2000	AU 6473499 A CN 1325462 T WO 0026447 A1 EP 1141453 A1 TR 200101052 T2	22-05-2000 05-12-2001 11-05-2000 10-10-2001 21-08-2001
US 6306835 B1	23-10-2001	KEINE	
WO 9829099 A	09-07-1998	US 6096291 A AU 739512 B2 AU 5675698 A BR 9713792 A EP 0948322 A2 HU 0001838 A2 WO 9829099 A2 JP 2001507358 T US 6017513 A	01-08-2000 11-10-2001 31-07-1998 08-02-2000 13-10-1999 28-10-2000 09-07-1998 05-06-2001 25-01-2000
US 4708951 A	24-11-1987	JP 1697682 C JP 3065187 B JP 60203265 A	28-09-1992 09-10-1991 14-10-1985
EP 0948960 A	13-10-1999	US 6413505 B1 AU 750238 B2 AU 2367699 A BR 9917173 A CN 1246328 A EP 0948960 A2 JP 11322552 A NO 991661 A NZ 335119 A SG 73633 A1 ZA 9902594 A	02-07-2002 11-07-2002 21-10-1999 11-12-2001 08-03-2000 13-10-1999 24-11-1999 11-10-1999 29-09-2000 20-06-2000 09-10-2000
US 5595980 A	21-01-1997	AT 193438 T AU 8011594 A CA 2173101 A1 DE 69424793 D1 DE 69424793 T2 EP 0721326 A1 JP 9503763 T WO 9508981 A1 ZA 9407572 A	15-06-2000 18-04-1995 06-04-1995 06-07-2000 21-09-2000 17-07-1996 15-04-1997 06-04-1995 28-09-1995

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☒ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.